

博士学位論文

学位論文内容の要旨および審査結果の要旨

氏 名 遠藤 ちひろ

学 位 の 種 類 博士（獣医学）

学位授与の条件 酪農学園大学学位規程第3条第3項に該当

学位論文の題目 馬サラブレッド種大動脈弓背側における組織構成成分の割合なら
びに組織病変の年齢推移に関する病理組織学的検討

審 査 委 員

主査 准教授 松田 一哉（獣医病理学）

副査 教 授 竹花 一成（獣医組織解剖学）

副査 教 授 中出 哲也（画像診断学）

学位論文要旨

馬サラブレッド種大動脈弓背側における組織構成成分の割合ならびに 組織病変の年齢推移に関する病理組織学的検討

酪農学園大学大学院 獣医学研究科 獣医病理学
遠藤 ちひろ

大動脈破裂による馬の突然死は高齢馬でよく発生する事が知られており、日本の種牡馬の死因として大きな割合を占めている。動脈破裂による死亡馬の大動脈壁には、特に中膜において嚢胞性中膜壊死、層状中膜壊死、弾性膜の断片化や「脈管の脈管」の内膜肥厚などの組織学的病変が認められており、これらが動脈破裂の要因になると考えられ、かつ、これらが動脈破裂の基礎病変にある可能性が示唆されてきた。また、これらの病変の病理組織学的評価方法として、病変の有無や位置、程度を利用したグレーディング法が用いられてきており、大動脈破裂の病理発生との結び付きが検討されてきた。しかし、限られた年齢間や症例報告が主体であり、胎子や高齢の馬での検索報告は未だない。

一方、動脈壁組織の基本的構成成分である弾性線維、膠原線維、平滑筋細胞の分布を顕微鏡 1 視野面積当りの割合として算出し評価する方法が、近年馬で報告されている。この評価方法は動脈破裂群と非破裂群の病理組織学的比較のために用いられており、馬の加齢に伴う大動脈壁の組織学構成成分の動態を検索した報告はない。

そこで本研究では 97 日齢の胎子から 29 歳までの馬サラブレッド種を用いて、大動脈弓における基本的構成成分と組織学的病変の加齢に伴う変化について検討した。

第1章では、大動脈弓の動脈壁厚と中膜構成成分の種類とその割合の年齢別、採材位置別の差異と推移を明らかにした。

肉眼で測定した内・中膜の壁厚内での中膜割合は、最大は胎子の 99.80%であり、最小は6から11ヵ月の 99.02%であった。全検体の平均値は 99.14%であり、組織学的に馬の大動脈壁は年齢に関係なくほぼ中膜であることが明らかになった。したがって、馬の大動脈壁厚の加齢に伴う増加は中膜厚の増加によるものと考えられる。

馬サラブレッド種の大動脈弓中膜の主な基本的構成成分は弾性線維、平滑筋細胞、膠原線維、および粘液の 4 つであり、脂質沈着は認められなかった。組織構成成分割合は全年齢グループに共通して平滑筋の割合が 20%以上、弾性線維は 10%以上であった。弾性線維と平滑筋の割合が一定の範囲内であることは大動脈が破裂せずに機能し続けるために大切と考えられる。弾性線維の年齢グループ別の割合は、胎子で最も少ない 12%で、6 から 11 ヶ月齢で最大となり、その後緩やかに減少し 15%まで低

下した。膠原線維は加齢に伴って増加し 20 歳以上で最大であった。今回、馬でも生後早いうちに弾性線維が増加すること、馬では 6 から 11 ヶ月までが最も多いことが明らかになった。平滑筋は胎子で最も少なく、加齢に伴いやや増加が認められたものの、今回検索した 4 つの構成成分の中で最も変化が少なかった。一方粘液量は胎子で最も多く、弾性線維量の推移とは逆に増減していた。馬大動脈壁の基本的構成成分の割合はサラブレッド種と、既に報告されているフリーズアン種との間で品種差が認められ、さらにサラブレッド種内でも年齢によってその構成成分割合には大きな差が認められた。一方、サラブレッド種で各構成成分の採材位置間の有意差は認められなかった。

第2章では、中膜特有の病変である嚢胞性中膜壊死、弾性膜の断片化、弾性膜の配列異常、平滑筋細胞の核消失、内皮直下の粘液貯留層、「脈管の脈管」の侵入位置について、グレーディング法を用いて検索した。グレーディング法で分類した病変をスコア化し、そのスコア平均値からサラブレッド種の大動脈弓背側領域における病変の発生頻度や病変の程度、年齢および採取位置による傾向について考察した。

この検索で認められた特徴は、嚢胞性中膜壊死と弾性線維の断片化、内皮直下の粘液貯留層の3つの所見が全年齢グループで認められたことである。このうち内皮直下の粘液貯留層は今回が初めての報告である。各病変の出現や傾向については、嚢胞性中膜壊死は特に **Intralamellar** タイプという1層の隣接する弾性膜間に限局した粘液貯留巣が全グループで確認され、加齢に伴い増加することがわかった。弾性膜の断片化は全年齢グループで認められた。断片化の推移は、胎子から5ヵ月までの検体で高く、6ヵ月で低くなり、1歳以降で加齢に伴い上昇した。弾性膜の配列異常も胎子から存在していた。配列異常の推移は加齢に伴い増加していた。6 ヶ月以降の増加は嚢胞性中膜壊死のスコアと同様に増加しており、もともとの層構造内に存在しない粘液が巣状に貯留することと、弾性膜の配列の乱れが関連している可能性が示唆された。平滑筋細胞の核消失のうちパッチ状が 1.5 か月齢で初めて認められ、年齢とともに増加する傾向を認めた。バンド状はさらに少なかった。一方、動脈破裂部位では平滑筋細胞消失が多数認められると報告されていることから、今回のスコアを大きく上回る場合は大動脈の破綻に関連している可能性があると考えられる。内皮直下の粘液貯留層も、全グループで観察された。内皮直下の粘液貯留層は生後 0 日から 5 ヶ月までが最も高く、加齢に伴って減少しており、嚢胞性中膜壊死の **Intralamellar** タイプと負の相関を示した。このことから、内膜側の粘液は減少するが、中膜の粘液は増加するとわかった。ただし、粘液は平滑筋細胞が産生するという報告があり、粘液の分布変化ではなく、平滑筋細胞の性質変化によって粘液貯留の分布が変化している可能性も考えられる。「脈管の脈管」は加齢に伴って動脈壁の内側へと侵入していくといわれているが、今回の検索では出生後のほとんどの検体で中膜の内側に存在していた。このことから、中膜の層状壊死は栄養血管の内側への侵入不足によるものであるとは

いえないと考えられる。

大動脈の採材位置による病変の差は近位でより重症であった。このうち有意差を認めたのは嚢胞性中膜壊死の **Intralamellar** タイプと内皮直下の粘液貯留層のみであり、粘液貯留は近位でより重症化しやすいことが明らかになった。

本研究により、サラブレッド種の動脈中膜では加齢に伴って弾性線維の減少と膠原線維の増加、粘液の増加がおくとわかった。このうち弾性線維減少と膠原線維増加はヒトと一致しており、中膜の加齢による変化は馬もヒトも同様である可能性が考えられた。今回検索した位置で動脈破裂を認めなかったことから、今回の構成成分変化は加齢性変化であることが明らかになった。今回の結果は背景データとして今後有用であると考えられる。一方、今回検索した病変のうち加齢によってグレードが上昇していたのは嚢胞性中膜壊死と弾性線維の配列の乱れ、それに平滑筋細胞消失であった。これらの病変は動脈破裂が好発する高齢で顕著に上昇しており、動脈破裂と病理組織病変との間に関連性がある可能性が示唆された。また、構成成分変化と同様に今回検索した検体はすべて動脈破裂を起こしていないため、今後動脈破裂の検体を検索した際、今回検索したスコア平均値から逸脱して高値を示すようであれば組織病変が動脈破裂の原因として大きく関与している可能性がある。よって、今回の結果は動脈の組織病変が動脈破裂の原因としてどの程度関わっているかを判断する有用なデータとなりうる。

本研究で組織病変の増加と基本的構成成分割合の変化が一致していることが明らかになり、病変の評価としても有用である可能性が示唆された。弾性線維の増減は、弾性膜を構成する弾性線維の本数やその断片化と関連があると考えられる。一方、粘液の増加は嚢胞性中膜壊死の増加と関連していると考えられる。フリージアン種の動脈破裂群と非破裂群の間には構成成分の割合に有意差があることが報告されている。今後動脈病変の検索を行う際には、組織病変の検索だけでなく画像処理による構成成分割合の検索も有用であり、活用していくことが好ましいと考えられる。

論文審査の要旨および結果

1 論文審査の要旨および結果

審査は、1)体裁を整え、新規性があり、明確に十分な根拠があるか、2)科学および獣医学の発展に寄与する内容であるかの2点を重点に行われた。

論文の概要について

遠藤ちひろ氏は、種牡馬の主要な死因の一つである馬の大動脈破裂の病態発生の解明を目的として、大動脈の組織構成成分ならびに組織学的病変の加齢性推移および位置による差異に着目し、本研究を計画実施した。第1章において、サラブレッド種馬の胎子から29歳までの90頭の大動脈弓背側領域について動脈壁厚の計測を行い、特殊染色標本ならびに免疫組織化学染色標本を画像解析することによって、動脈壁の組織構成成分（弾性線維、平滑筋、膠原線維、粘液）の割合とその加齢性推移および位置による差異を明らかにした。第2章において、胎子から29歳までの77頭の大動脈弓背側領域について病理組織学的検索を実施し、病変の有無、程度、分布について、ヒトの大動脈病変のグレード分類法を活用して評価を行い、組織学的病変の加齢性推移および位置による差異を明らかにした。

研究の背景と目的

馬における大動脈破裂はよく知られた病態であり、日本のサラブレッド種牡馬の主要な死因の一つに挙げられるが、その発症要因については未だ明確に示されていない。レース中や交配中の破裂の場合には動脈内圧の上昇が発症要因として指摘されるが、大動脈の組織構築自体が動脈破裂の発症にどのように関与するのかについて、明確な知見は未だ示されていない。

遠藤氏は、サラブレッド種馬における大動脈破裂の病態発生を解明する上で、大動脈の組織構築の動態を明らかにすることが不可欠であると考えた。

遠藤氏は、まず、第1章において、大動脈弓背側領域の組織構成成分の割合の年齢による推移ならびに位置による差異を明らかにすることを目的とした。年齢による推移については、胎子から29歳までの90頭を7つの年齢群に分けて、動脈壁厚ならびに中膜の組織構成成分の割合を解析し、これらの加齢性推移について研究を進めた。位置による差異については、各個体の大動脈弓から3部位（近位、中間位、遠位）を設定し、動脈壁厚ならびに中膜の組織構成成分の割合を解析し、これらの部位による差異について研究を進めた。

第2章では、大動脈弓背側領域に認められる組織学的病変について、年齢による推移ならびに位置による差異を明らかにすることを目的とした。年齢による推移については、胎子から29歳までの77頭を7つの年齢群に分けて、過去に馬やヒトの動脈病変として報告のある病変（嚢胞性中膜壊死、弾性膜の断片化・配列異常、層状中膜壊死（平滑筋細胞の消失）、「脈管の脈管」の侵入深度、ならびに、その他の病変について解析し、これら病変の加齢性推移について研究を進めた。位置による差異については、第1章同様に3部位を設定し、組織学的病変について解析し、これらの部位による差異について研究を進めた。各病変の程度や分布を客観的に評価するために、ヒトの大動脈病変のグレード分類法を

用して評価を行った。

研究の成果

第1章では、馬サラブレッド種の大動脈弓背側領域における動脈壁は年齢に関わらず、厚さの大部分を中膜が占めること（平均 99.02%）、動脈厚の増加は中膜厚の増加に因ることを明らかにした。中膜は組織学的に弾性線維、平滑筋、膠原線維、粘液の4成分から構成され、各成分割合の加齢に伴う推移を明らかにした。具体的には、弾性線維は胎子で最も少ない12%で、6-11ヵ月齢で最大となり、その後、緩やかに15%まで減少した。平滑筋は胎子で最も少なく、加齢とともに軽度に増加した。膠原線維は加齢性に増加した。粘液は胎子で最も多く、弾性線維とは逆に増減した。全年齢群を通じて弾性線維は10%以上、平滑筋は20%以上であり、これら成分の割合が一定範囲内にあることが、大動脈が破裂しないために重要である可能性を示した。各構成成分の割合について、位置による有意差は認められなかった。

第2章では、大動脈弓背側領域に認められる組織学的病変の有無、程度、分布の加齢性変化について、以下の知見を得た。嚢胞性中膜壊死は全年齢群で Intralamellar type の粘液貯留巣が認められ、加齢とともに増加した。弾性膜の断片化は全年齢群で認められ、一部、群間に有意差を認めた。弾性膜の配列異常は胎子から認められ、加齢に伴い増加した。嚢胞性中膜壊死（Intralamellar type）と弾性膜の配列異常は同様の増加を示しており、粘液貯留巣の増加と弾性膜の配列異常が相関している可能性を示した。層状中膜壊死（平滑筋細胞の核消失）のパッチ状変化は出生後に認められて加齢性に増加し、バンド状変化は高齢群で軽度に認められた。内皮直下の粘液貯留層は本論文でその存在を初めて明らかにした組織学的変化であり、全年齢群で認められ、0-5ヵ月齢で最も高く、加齢に伴って減少した。この加齢に伴う減少は嚢胞性中膜壊死の増加と負の相関を示しており、加齢に伴って粘液貯留の分布が変化する可能性が示された。脈管の脈管は出生後の殆どの検体で中膜内層への侵入が確認された。組織学的病変の位置による比較では、近位側でより重症となる傾向が認められ、嚢胞性中膜壊死（Intralamellar type）と内膜直下の粘液貯留層で有意差を認めた。以上の結果は、サラブレッド種馬の大動脈非破裂症例における組織学的病変として、大動脈破裂発症例に認められる組織学的変化を評価する上で非常に有用な知見となることを示した。

研究の評価

本論文は、博士論文としての体裁が整えられており、馬サラブレッド種の大動脈弓の組織構成成分と組織学的病変の加齢性推移ならびに位置による差異を明確にした点、ならびに、大動脈病変としてこれまでに報告のない「内皮直下の粘液貯留層」の存在を明らかにした点で新規性があり、また、これらの知見は多数頭数を検索対象とし、画像解析や病変のグレード評価を活用することによって客観性を高めた検索結果に基づき、明確に十分な根拠に基づく内容であると判断された。さらに、本論文の内容は、馬サラブレッド種の動物種固有の大動脈弓の組織構築の動態に関する組織解剖学的見地から重要な内容であり、尚且つ、大動脈破裂の病態発生の解明を進めるために必要な病理学的見地から重要な内容

であることから、科学および獣医学の発展に寄与する内容であると判断された。
以上のことから、遠藤ちひろ氏は博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有すると審査員一同は認めた。

2 最終試験の結果

審査委員3名が最終試験を行った結果、合格と認める。

2018年2月6日

審査委員

主査	准教授	松田	一哉
副査	教授	竹花	一成
副査	教授	中出	哲也